DOI:10.11931/guihaia.gxzw202408044

豌豆 EMS 突变体库构建及优异突变体筛选

王东霞[1]，刘明霞[1]，姚彦林[1]，胡静蕾[2]，魏玉龙[3]，张怀刚[2]，刘宝龙[2]，曹东*[2]

（1. 青海大学 农牧学院，西宁 810016；2. 中国科学院西北高原生物研究所/青海省作物分子育种重点实验室，西宁 810008；3. 呼伦贝尔农垦特尼河农牧场有限公司，呼伦贝尔 021500）

摘　要：为创制更丰富的豌豆变异材料，获取优异变异豌豆种质，该研究以‘青建 1 号’豌豆为试验材料，甲基磺酸乙酯（EMS）作为诱变剂，EMS 浓度 1%、诱变时间 8 h 为半致死诱变条件，分析该诱变条件下豌豆植株突变类型，获得突变体重要表型性状数据，建立豌豆表型突变体库，并结合田间表型数据，筛选优异突变体材料。结果表明：（1）通过 1%、8 h EMS 诱变 10 000 粒豌豆种子，M_1 代有 4 682 株成苗，M_2 代筛选到 342 份豌豆突变体。（2）研究发现突变体豌豆表型性状突变类型比较丰富，其中单株籽粒干重变异系数最大，达到 0.965。（3）通过对田间表型数据进行综合分析，筛选到 10 份优异的豌豆突变体种质。该研究结果丰富了豌豆种质资源，可为豌豆相关功能基因挖掘和研究以及优良品种选育提供参考依据。

关键词：豌豆，EMS，突变体库，种质资源，优异突变体

中图分类号：Q943　　　　**文献标识码：**A

Construction of EMS mutant library and screening of excellent mutants of pea

WANG Dongxia[1], LIU Mingxia[1], YAO Yanlin[1], HU Jinglei[2], WEI Yulong[3]，ZHANG Huaigang[2], LI U Baolong[2], CAO Dong[2*]

(1. *College of Agriculture and Animal Husbandry*, *Qinghai University*, Xining 810008, China; 2. *Northwest Institute of Plateau Biology Chinese Academy of Sciences/Key Laboratory of Crop Molecular Breeding in Qinghai Province*, Xining 810008, China; 3. *Hulunbuir Nongken Tenihe Agricultural and Pasture Limited Company,* Hulunbuir 021500, China)

Abstract: To create a broader range of pea mutation materials and acquire superior mutant pea germplasm, ‘Qingjian No. 1’ pea was used as the experimental material and ethyl methane sulfonate (EMS) as the mutagen. The EMS concentration of 1% and mutagenesis time of 8 hours were selected as semi-lethal mutagenesis conditions. The study analyzed the mutation types of pea plants under these conditions and obtained important phenotypic data for the mutants, establishing a pea phenotypic mutant library. Combined with field phenotypic data, excellent mutant materials were selected. The results were as follows: (1) 10 000 pea seeds were treated with 1% EMS for 8 hours, resulting in 4 682 M_1 plants and 342 pea mutants in M_2 generation. (2) The phenotypic mutation types of

基金项目：青海省科技厅重大专项（2023-NK-A3-B3）；青海省科技成果转化项目（2022-NK-114）；青海省联合专项（LHZX-2021-06）。

第一作者：王东霞（1988—），博士，副教授，研究方向为作物遗传育种，(Email) wangdx1127@163.com。

***通信作者：**曹东，博士，副研究员，研究方向为作物遗传育种，(E-mail) caodong@nwipb.cas.cn。

mutant peas were diverse, with the coefficient of variation in individual seed dry weight being the largest at 0.965. (3) By comprehensively analyzing the field phenotypic data, 10 excellent pea mutant germplasms were selected. This study enriches the pea germplasm resources and provides a reference for functional gene mining and the breeding of superior pea varieties.

Key words: peas, ethyl methane sulfonate (EMS), mutant library, germplasm resource, excellent mutant

豌豆为豆科（Leguminosae）豌豆属（*Pisum* L.）一年生冷季豆类作物（刘荣等，2020；仪登霞和庞永珍，2022），具有耐寒、耐旱、抗盐碱和适应性强等特点，是世界重要的栽培作物之一（Heydisz et al., 2020; Lu et al., 2020）。豌豆具有共生固氮能力，有助于提高土壤肥力，促进农业的可持续发展（Mabrouk et al., 2018）。青海省位于青藏高原东北部，具有独特的地理位置和自然环境（邓得玲等，2023）。经过漫长的自然和人工选择，形成了具有耐寒、抗逆性和适应性强的特有农业种质资源，也是青藏高原农业种质资源最为丰富的地区之一。豌豆在青海高海拔强辐射等独特的地理位置以及气候条件下也表现出较强适应性。因此，通过深入研究豌豆的生长规律和抗逆性机制，并利用生物技术手段，改良豌豆的种子大小、颜色、品质等主要性状，建立豌豆种质资源表型数据库和突变体库，对培育综合抗性较强的优异豌豆新品种和产品开发有重要意义。

突变体库是包含各种不同基因突变的个体（朱琨和李宗芸，2024）。国外在豌豆分子育种方面进展较快，已定位了多个豌豆重要农艺性状、抗病虫、抗逆性相关的位点和基因，包括茎长和节间数、种子产量和蛋白质含量以及成熟度（Tar′an et al., 2004）。构建作物突变体库是研究农作物功能基因及其新品种培育的重要基础。构建植物突变体资源库的方法主要分为三大类，即自发突变、插入突变及理化诱变（Jung et al., 2003）。与传统育种方法相比，诱变育种具有突变频率高、变异范围大、育种年限短等优势（Tasaka, 2011; 刘翔，2014）。理化诱变是应用较普遍的化学诱变方法，甲基磺酸乙酯（ethyl methane sulfonate，EMS）是一种被广泛应用的化学诱变剂，具有成本低、操作简易、诱变效率高、染色体畸变少、遗传稳定、易于筛选等诸多优点，便于获得丰富多样的突变体材料，是构建植物突变体库的优选方案（张凤启等，2010）。但 EMS 诱变具有不确定性和随机性，诱变材料不同，诱变效率差异也较大。白邦琴（2018）研究结果表明，EMS 接近半致死剂量（LD_{50}）的处理条件下，突变效率较高，获得的突变体较多，故被选为 EMS 诱变的最佳条件。EMS 诱变处理的浓度和时间是影响诱变效率的关键因素（曲高平等，2014），EMS 浓度过高导致突变材料致死量过多，浓度过低则突变效果较差，因此想要获得突变频率高、突变范围广、可遗传变异多的理想突变体，适宜的突变条件是获得突变体群体的关键（薛伟，2023）。康勋杰等（2024）利用 EMS 诱变技术创制弱感光水稻种质资源，初步证明了 EMS 诱变技术在改良水稻感光性上的可行性，对丰富水稻遗传资源和加快育种进程具有重要意义。范世航等（2021）构建春性油菜 EMS 诱变突变体资源库为油菜功能

基因组学研究和分子育种提供表型多样的种质资源。刘丹阳（2022）利用 EMS 诱变紫粒小麦创制小麦新种质。马美艳（2023）基于 EMS 诱变小麦抗除草剂突变体创制及鉴选，鉴定获得抗除草剂突变体，进一步丰富了小麦抗除草剂的遗传基础，促进抗除草剂小麦品种的选育。董颖苹等（2006）利用 EMS 诱变研究马铃薯四倍体栽培种茎段组织，探讨 EMS 对马铃薯四倍体栽培种诱变的有效性。可见，利用 EMS 诱变技术，是创制农作物突变体的重要方法。目前，有关豌豆突变体相关报道较少，利用 EMS 诱变豌豆种子，是获得较丰富豌豆突变体材料的重要途径。

本研究以‘青建 1 号’豌豆为试验材料，参考郝俊杰等（2012）研究结果，结合前期预实验结果，设置 EMS 诱变浓度 1%，诱变时间 8 h 进行诱变处理，在该诱变条件下，对‘青建 1 号’豌豆 10 000 粒种子进行诱变后种植（M_1），单株收获种子，次年进行种植，统计和记录田间植株突变表型及农艺性状，并对各性状进行主成分分析、相关性分析和隶属函数分析，筛选出优异突变体。本研究不仅可以创制更丰富的豌豆变异材料，也可以获取优异变异豌豆种质，研究结果可为豌豆相关功能基因挖掘和新品种选育奠定材料基础。

1 材料方法

1.1 材料与试剂

本研究所用材料‘青建 1 号’豌豆由中国科学院西北高原生物研究所提供。甲基磺酸乙酯(EMS)作为诱变剂，0.01 $mol·L^{-1}$ 浓度的磷酸缓冲液作为诱变缓冲液。

1.2 试验方法

1.2.1 豌豆突变体库的构建

本实验以 10 000 粒‘青建 1 号’豌豆种子为材料，1% EMS 诱变 8 h 为诱变处理条件，以 0.1 $mol·L^{-1}$ 磷酸缓冲液处理 8 h 为对照，3 次重复。诱变处理后冲洗干净种子，用单粒点播的方式播种于实验地，行长为 2 m，行距为 0.25 m，株距为 0.1 m，并进行田间常规管理，试验过程中详细记录和统计植株变异情况。成熟后单株收获，次年在同一实验地进行相同模式播种，获得 M_2 植株。对 M_2 单株进行突变体及性状调查统计。

1.2.2 农艺性状调查

参考高小丽等（2016）研究结果，调查相关主要农艺性状，包括豌豆的 M_1 代和 M_2 代生育期、单荚籽粒数、单株总豆荚数、单株籽粒干重等，豌豆成熟后按单株进行收获，并记录数据。

1.3 数据分析

用 Excel 2010、SPASS 20.0 软件以及 Origin 软件分析各突变体豌豆性状指标的差异和变化。采用隶属函数模糊评价法进行综合评价。隶属函数分析公式如下：

$$隶属值=(X_{测}-X_{min})/(X_{max}-X_{min}) \quad (1)$$

$$反隶属值=1-(X_{测}-X_{min})/(X_{max}-X_{min}) \quad (2)$$

式中：$X_{测}$为测定值；X_{min}为各处理指标最小值；X_{max}为各处理指标最大值。

若指标与主要性状正相关使用隶属值公式，反之使用反隶属值公式。按照突变体各指标隶属值平均值进行排序。

2 结果与分析

2.1 突变性状的统计及分析

经 EMS 诱变剂处理后（EMS 浓度 1%，诱变时间 8 h）的豌豆种子（M_1）单粒点播的方式播种于青海省西宁市吧浪实验地（121°29′21.8″ E、31°24′18.97″ N），共有 4 682 株成苗，成苗率 46.82%，实验过程中详细记录统计观察 M_1 豌豆植株的各个时期农艺性状，成熟期单株收获种子（M_2 种子）。

将单株收获的 M_2 豌豆种子进行单行播种，在整个豌豆生育期，详细统计和记录各单株表型农艺性状，发现豌豆突变株 342 株，以下是 M_2 突变豌豆植株不同发育时期不同部位突变记录情况。

2.1.1 叶色

在 M_2 突变植株中，获得叶部性状突变植株 7 株，占总突变体数的 2.05%，主要表现为部分叶色黄化突变。通过比较野生型和突变体植株叶片表型，发现突变豌豆部分叶片呈现黄化现象，但叶片形态与野生型植株叶片形态差异不明显（图 1）。



图 1　野生型与突变体叶色差异对比

Fig. 1　Comparison of leaf color differences between wild-type and mutant

2.1.2 开花特性

在 M_2 突变植株中，获得开花特性突变的植株 21 株，占总突变体数的 6.14%。通过在田间对野生型和突变体植株进行开花特性观察和统计，发现突变体豌豆与野生型豌豆的植株株型和株高基本一致，无明显

差异，但突变植株开花期晚于野生型植株。突变植株盛花期晚于野生型且整株开花数较少（图 2）。



图 2　野生型和突变体开花差异对比

Fig. 2　Comparison of flowering differences between wild-type and mutant

2.1.3 籽粒

对野生型和能够开花结实的突变体植株，成熟后收获种子，比较野生型和突变体种子大小，发现突变体籽粒直径明显小于野生型籽粒直径（图 3）。



图 3　野生型和突变体籽粒大小对比

Fig. 3 Comparison of grain size between wild-type and mutant

2.2 突变体豌豆表型多样性分析

通过对本研究共获得 342 株突变植株综合拷种数据分析发现，突变体植株的单株籽粒干重、单株总豆荚数、单荚籽粒数、单株分枝数、株高、单株籽粒总投影面积等差异较大，初花期、盛花期、结荚期差异较小，出苗期、分枝期和成熟期无差异。

对 342 份突变体豌豆种质资源重要农艺性状进行统计分析，建立了突变体库表型数据库（表 1）。同一播种期，豌豆出苗期、分枝期、成熟期基本一致，变异较小，但单株籽粒干重、单株总豆荚数、单荚籽粒数、单株分枝数、株高、单株籽粒总投影面积 6 个主要田间表型性状变异程度较大，各表型性状的变异系

数范围为 0.099~0.965。单株籽粒干重的最大值为 109.400 g，最小值为 1.860 g，故其变异系数最大（0.965）；其次为单株总豆荚数，最大值为 155 个，最小值为 1 个，变异系数 0.761；单荚籽粒数和单株分枝数的变异系数也较大，分别为 0.631 和 0.431，单荚籽粒数和单株分枝数变异较明显。综上可知，通过 EMS 诱变后，豌豆突变体表型性状遗传变异丰富，获取的豌豆突变材料，可为豌豆新品种选育提供材料基础。

表 1 突变体库表型统计表

Table 1 Statistical table of mutant library phenotypes

项目 Item	出苗期 Seeding stage (d)	分枝期 Branching stage (d)	初花期 Early flowering stage (d)	盛花期 Full-bloss om stage (d)	结荚期 Fruiting stage (d)	成熟期 Mature stage (d)	株高 Plant height (cm)	单株总豆荚数 Number of pods per plant	单荚籽粒数 Number of grains per pod	单株分枝数 Number of branches per plant	单株籽粒干重 Dry grain weight per plant (g)	单株籽粒总投影面积 Total projected area of individual seeds per plant (cm^2)
平均值 Mean value	17.000	53.000	80.962	83.982	103.944	135.000	107.460	38.300	3.200	3.040	23.775	31.585
标准差 Standard deviation	0.000	0.000	0.191	0.131	0.241	0.000	23.263	29.145	2.021	1.311	22.945	3.149
方差 Variance	0.000	0.000	0.037	0.017	0.058	0.000	541.182	849.418	4.083	1.719	526.473	9.920
变异系数 Coefficient of variation	0.000	0.000	0.002	0.002	0.002	0.000	0.216	0.761	0.631	0.431	0.965	0.099
最小值 Minimum value	17.000	53.000	80.000	83.000	102.000	135.000	49.000	1.000	0.000	1.000	1.860	16.550
最大值 Maximum value	17.000	53.000	81.000	84.000	104.000	135.000	223.000	155.000	6.000	10.000	109.400	42.030

2.3 突变体豌豆主要农艺性状相关性分析

通过对突变体库 342 份豌豆主要性状进行相关性分析。由表 2 可知：豌豆突变体初花期与单株分枝数呈极显著正相关，初花期与盛花期和结荚期均呈显著正相关，但与单株总豆荚数呈负相关；株高与单株总豆荚数和单株分枝数呈极显著正相关关系；单株总豆荚数与单株分枝数和单株籽粒干重呈极显著正相关关系，与单株籽粒总投影面积呈相关关系；单株分枝数与单株籽粒干重呈显著正相关关系，单株籽粒干重与单株籽粒总投影面积也呈显著正相关关系，但单株籽粒干重与盛花期呈负相关。由此可知，豌豆主要受初花期、株高、单株籽粒干重等因素影响，因此在农业生产中可以通过调控初花期和培育高杆品种等技术手段提高豌豆产量。

表 2　突变体豌豆主要性状相关性分析

Table 2 Correlation analysis of main traits of mutant pea

项目 Item	初花期 Early flowering stage	盛花期 Full-blossom stage	结荚期 Fruiting stage	株高 Plant height	单株总豆荚数 Number of pods per plant	单株分枝数 Number of branches per plant	单株籽粒干重 Dry grain weight per plant	单株籽粒总投影面积 Total projected area of individual seeds per plant
初花期 Early flowering stage	1							
盛花期 Full-blossom stage	0.129*	1						
结荚期 Fruiting stage	0.120*	0.053	1					
株高 Plant height	0.057	0.002	0.098	1				
单株总豆荚数 Number of pods per plant	-0.045	-0.055	0.012	0.221**	1			
单株分枝数 Number of branches per plant	0.141**	-0.104	0.088	0.285**	0.292**	1		
单株籽粒干重 Dry grain weight per plant	0.004	-0.070	-0.061	0.070	0.285**	0.132*	1	
单株籽粒总投影面积 Total projected area of individual seeds per plant	0.065	0.073	0.051	0.065	0.112*	0.053	0.142*	1

注：*代表显著差异（P<0.05）；**代表极显著差异（P<0.01）。

Note: * indicates significant differences (P<0.05); ** indicates extremely significant differences (P<0.01).

2.4 突变体豌豆主要性状主成分分析

对 342 份豌豆突变体的 9 个主要表型性状进行主成分分析。结果如表 3 所示，确定了 5 个主成分（特征值大于 1），这 5 个主成分的贡献率分别为 52.511%、16.248%、12.253%、10.997%、7.991%，累计贡献率达到了 92.044%，综合反映出 342 份豌豆突变体的 9 个主要性状的大部分信息，可以用于豌豆突变体种质资源表型性状的综合评价。第一主成分的因子贡献率较高（52.511%），主要代表了与豌豆生育期相关因子，包括初花期、分枝期、盛花期、结荚期，第二主成分的因子贡献率为 16.248%，主要代表了豌豆单株总豆夹数（0.888）和株高（0.676）。第三主成分的因子贡献率为 12.253%，主要代表单株籽粒干重（0.928）。第四主成分的因子贡献率为 10.997%，主要代表出苗期（0.979）。第五主成分的因子贡献率为 7.991%，主要代表了单株籽粒总投影面积均值（0.979）。

表 3 突变体豌豆种质资源主要形态特征性状主成分分析

Table 3 Principal component analysis of main morphological characteristics and traits of mutant pea germplasm resources

项目 Item	主成分 Principal component (%)				
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
特征值 Eigenvalue	4.350	1.346	1.015	0.911	0.662
贡献率 Contribution rate (%)	52.511	16.248	12.253	10.997	7.991
累计贡献率 Cumulative contribution rate (%)	40.232	56.039	68.909	80.728	92.044
初花期 First flowering stage	0.979	0.128	0.072	0.053	0.093
分枝期 Branching stage	0.961	0.038	0.017	-0.044	0.124
盛花期 Full-blossom stage	0.941	0.222	0.132	0.163	0.048
结荚期 Fruiting stage	0.846	0.292	0.182	0.250	0.008
单株总豆荚数 Number of pods per plant	0.250	0.888	0.010	0.078	0.084
株高 Plant height	0.125	0.676	0.478	0.026	-0.104
单株籽粒干重 Dry grain weight per plant	0.139	0.137	0.928	0.058	0.126
出苗期 Seeding stage	0.149	0.072	0.055	0.979	0.014
单株籽粒总投影面积 Total projected area of individual seeds per plant	0.133	0.014	0.094	0.014	0.979

2.5 突变体豌豆主要表型性状隶属函数综合分析

对 342 份突变体豌豆株高、单株总豆荚数、单株分枝数、单株籽粒干重和单株籽粒总投影面积 5 个重要指标进行隶属函数综合分析，计算得到每份突变体材料的隶属函数平均值，并根据隶属函数平均值大小进行综合排序，筛选排名前 10 的作为优异突变体材料，均属于叶片黄化，并伴随开花数减少和籽粒直径减小的突变类型（表 4）。这 10 份突变体豌豆的植株综合性状表现优于其他突变体材料，株高均在 105 cm 以上，单株总豆荚数均多于 85 个，单株分枝数 5 个以上，单株籽粒干重 60 g 以上，单株籽粒总投影面积 30 cm^2 以上。

表 4 突变体豌豆主要表型性状隶属函数分析表

Table 4　Membership function analysis and statistics of major phenotypic traits of mutant pea

名称 Name	平均隶属函数值 Average membership function value	综合排序 Comprehensive ranking
2023BL26	0.663	1
2023BL65	0.659	2
2023BL31	0.658	3
2023BL57	0.650	4
2023BL19	0.646	5
2023BL140	0.635	6
2023BL99	0.610	7
2023BL55	0.588	8
2023BL30	0.574	9
2023BL268	0.548	10

3 讨论与结论

植物种子作为诱变材料具有操作简单，可进行大批量处理，且生物学效应保持较长等特点（刘靖等，2024）。本研究选用豌豆种子作为诱变材料，通过前期大量预实验，筛选到 EMS 浓度 1%，诱变时间 8 h，该条件下豌豆种子达到诱变半致死，种子发芽率 51.16%，成苗率 46.82%，故选用该处理条件作为豌豆突变体库构建的最佳诱变条件。

3.1 豌豆突变体库的建立

诱变处理引发的突变位点是随机的，可能带来植物各组织器官各时期的表型突变，引发突变表型的突变频率也各不相同（范世航等，2021）。由于化学诱变的多方向性，在植株生长发育的各个时期和不同组织器官中均有可能发生表型变异（刘靖等，2024）。目前有关 EMS 诱变豌豆突变体库构建相关报道较少，但其他植物的有关 EMS 诱变突变体库构建相关

研究较多。方小梅等（2023）研究发现，EMS 诱变处理下，出现了苦荞叶片黄化、植株矮化、株型紧凑、籽粒颜色变化等多种突变体类型。有研究发现，利用 EMS 诱变处理纤花香茶菜种子后，出现了植株叶色突变、叶型突变和株型突变等变异类型（刘靖等，2024）。李洁等（2024）利用 EMS 诱变穿心莲种子，发现包括叶型、叶色、株型等 379 个形态性状突变株系且突变株之间表现出的抗逆、活性成分积累程度差异较大等特点。通过 EMS 诱变籽用美洲南瓜，筛选到株型突变材料、无籽果实突变材料、籽粒数目和籽粒大小突变材料以及花粉败育突变材料（孙明洋和王萍，2024）。Jung 等（2003）研究报道，在水稻等作物中，通过 EMS 诱变形成的突变体中，叶色和株型是两大主要突变表型，其中叶色突变的内因是由于控制叶绿素生物合成的关键基因发生突变，使得叶绿素代谢异常，表观上出现黄化、白花、亮绿等不同表型。可见，EMS 诱变植物，会引起叶片、株型、种子形态等发生变异，形成变异多样的突变体类型。

与前人研究方法类似，本试验通过 1%的 EMS 诱变剂对豌豆种子进行 8 h 的浸种诱变处理（豌豆半致死条件），处理后将种子单播，待种子成熟后进行单株收获（M_1），次年将收获的 M_1 代种子单行播种，获得 M_2 代 342 份豌豆突变体材料，观察和记录突变体材料的农艺性状，发现突变体的叶色、株型、籽粒大小都发生了较明显的变异，其中单株籽粒干重变异系数最大，达到了 0.965，其次是单株总豆荚数和单荚籽粒数，变异系数分别为 0.761 和 0.632。在 M_2 代突变体库中，突变体豌豆的开花数较少，结实率较低，一些突变体植株，每个植株存在多个突变表现，如矮化的植株长势较弱，豆荚较小，籽粒数较小等。本试验通过记录和统计突变体性状，构建豌豆突变体库，获得了较为丰富的叶色黄化突变体和株型突变体，为进一步探究豌豆黄化突变及其株型突变的分子机理提供材料基础。

3.2 豌豆优异突变体材料的筛选

本研究获得了 M_2 代的共 342 株叶色、株型、开花期、产量等相关的豌豆突变体，构建了豌豆突变体库。通过对豌豆突变体库材料株高、单株总豆荚数、单株分枝数、单株籽粒干重和单株籽粒总投影面积等 5 个重要指标进行统计分析，结合相关性分析、主成分分析和隶属函数分析，筛选到了 10 份优异豌豆突变体材料。这 10 份突变体豌豆的植株综合性状表现均优于其他突变体材料，株高均在 105 cm 以上，单株总豆荚数均多于 85 个，单株分枝数 5 个以上，单株籽粒干重 60 g 以上，单株籽粒总投影面积 30 cm^2 以上。这些优异突变体材料既可以应用于豌豆相关基因功能的挖掘和研究，又可用于豌豆新品种选育和产品开发利用。

本研究以青藏高原推广种植的‘青建 1 号’豌豆为试验材料，采用 EMS 诱变处理，建立了豌豆突变体库，并筛选到优异豌豆突变体材料，丰富了豌豆种质资源库，研究结果可为豌豆相关功能基因开发和新品种改良提供材料基础和参考依据。

参考文献：

ANNA A, CHIARA Z, CARMEN L, et al., 2015. The role of grain legumes in the prevention of hypercholesterolemia and hypertension[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 34(1/2/3): 144-168.

BAI BQ, 2018. Three turf grasses induced by EMS and preliminary screening and identification of its mutants [D]. Chongqing: Southwest University: 13-23. [白邦琴，2018. 三种草坪草的 EMS 诱变及其突变体的初步筛选与鉴定 [D]. 重庆：西南大学：13-23.]

DENG DL, ZHANG RJ, DENG L, 2023. Yellow River Basin in Qinghai Province: Adapting to local conditions and scientifically addressing climate change [J]. China Environment (11): 30-33.[邓得玲，张睿婧，邓黎，2023. 青海省黄河流域: 因地制宜，科学应对气候变化 [J]. 中华环境 (11)：30-33.]

DONG YP, LIAN Y, HE QC, 2006. EMS induction mutation of stem segments in tetraploid potato [J]. Chinese Potato Journal, 20(3): 145-149. [董颖苹，连勇，何庆才，2006. 马铃薯四倍体栽培种茎段组织的 EMS 诱变研究 [J]. 中国马铃薯，20(3)：145-149.]

FAN SH, SUN XC, LIU JL, et al., 2021. Construction and phenotypic analysis of EMS-treated mutant library in spring *Brassica napus* L. [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 43(5): 762-770. [范世航，孙兴超，刘婧琳，等，2021. 春性甘蓝型油菜 EMS 突变体库的构建与筛选 [J]. 中国油料作物学报，43(5)：762-770.]

FANG XM, YANG WJ, WANG YD, et al., 2023. Construction of EMS mutant library of Fagopyrum tataricum and SCoT marker screening analysis [J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 45(2): 54-65. [方小梅，杨文娟，王于栋，等，2023. 苦荞 EMS 突变体库的构建及 SCoT 标记筛选分析 [J]. 西南大学学报(自然科学版)，45(2)：54-65.]

GAO XL, LIAO WH, WANG SS, et al., 2016. Relationships among major agronomic traits and nutritional characters of Pea based on correlation/grey relational analysis [J]. Crops (5): 56-60.[高小丽，廖文华，王姗姗，等，2016. 豌豆主要农艺和品质性状的相关性及灰色关联度分析 [J]. 作物杂志 (5)：56-60.]

HAO JJ, ZHANG XY, WAN SW, et al., 2012. A method for constructing a pea EMS mutant library: CN201210222839.0[P]. CN102812803A. [郝俊杰，张晓艳，万述伟，等，2012. 一种豌豆 EMS 突变体库构建的方法：CN201210222839.0[P]. CN102812803A.]

HEYDISZ M, KACZMAREK SA, KUBIS M, et al., 2020. The effect of pro-tease and *Bacillus licheniformis* on nutritional value of pea, faba bean, yellow lupin and narrow-leaved lupin in broiler chicken diets [J]. British Poultry Science, 61(3): 287-293.

JUNG KH, JUNGHE H, CHOONG-HWAN R, et al., 2003. Characterization of a rice chlorophyll-deficient mutant using the T-DNA gene-trap system [J]. Plant Cell Physiology, 44(5): 463-472.

LI J, LAI ZQ, LI FL, et al., 2024. Construction of EMS mutant library and screening of specific mutant of *Andrographis paniculate* [J/OL]. Molecular Plant Breeding, 1-17[2024-12-10]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240328.1635.013.html. [李洁，赖珍沁，李富来，

等，2024. 穿心莲 EMS 突变体库构建及特异突变体筛选[J/OL]. 分子植物育种，1-17[2024-12-10]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240328.1635.013.html.]

LIU DY, 2022. Creating new germplasm of purple-grain wheat induced by EMS [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University: 1-53. [刘丹阳，2022. 利用 EMS 诱变紫粒小麦创制小麦新种质 [D]. 泰安：山东农业大学：1-53.]

LIU J, ZHAO SS, GU JF, et al., 2024. Construction of EMS mutant library of *Isodon lophanthoides* var. *graciliflorus* and analysis of ISSR and SSR [J]. Seed, 43(4): 17-26. [刘靖，赵双双，古敬锋，等，2024. 纤花香茶菜 EMS 突变体库构建及 ISSR 与 SSR 分析 [J]. 种子，43(4)：17-26.]

LIU R, YANG T, HUANG NN, et al., 2020. Research progress of germplasm resources of pea and its wild relatives [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 21(6): 1415-1423. [刘荣，杨涛，黄宇宁，等，2020. 豌豆及其野生近缘种种质资源研究进展 [J]. 植物遗传资源学报，21(6)：1415-1423.]

LIU X, 2014. Progresses on EMS mutagenesis in plant breeding [J]. Acta Laser Biology Sinica, 23(3): 197-201. [刘翔，2014. EMS 诱变技术在植物育种中的研究进展 [J]. 激光生物学报，23(3)：197-201.]

LU ZX, HE JF, ZHANG YC, et al., 2020. Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 60(15): 2593-2605.

MA MY, 2023. Creation and identification of wheat herbicide-resistant mutants based on EMS mutagenesis [D]. Yangling: Northwest A & F University: 1-41. [马美艳，2023. 基于 EMS 诱变小麦抗除草剂突变体创制及鉴选 [D]. 杨凌：西北农林科技大学：1-41.]

MARLES MA, WARKENTIN TD, BEET KE, 2013. Genotypic abundance of carotenoids and polyphenolics in the hull of field pea (*Pisum sativum* L.) [J]. Journal of the Science of Food Agriculture, 93(3): 463-470.

QU GP, SUN YY, PANG HX, et al., 2014. EMS mutagenesis and ALS-inhibitor herbicide-resistant mutants of *Brassica napus* L [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 36(1): 25-31. [曲高平，孙妍妍，庞红喜，等，2014. 甘蓝型油菜 EMS 突变体库构建及抗除草剂突变体筛选 [J]. 中国油料作物学报，36(1)：25-31.]

MABROUK Y, HEMISSI I, SALEM IB, et al.,2018. Potential of rhizobia in improving nitrogen fixation and yields of legumes [J]. Symbiosis, 107(73495): 1-16.

SUN MY, WANG P, 2024. Construction and phenotypic analysis of EMS mutant library of the seed-used pumpkin [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 44(8): 1283-1294.[孙明洋，王萍，2024. 籽用美洲南瓜 EMS 诱变突变体库的构建及表型分析 [J]. 西北植物学报，44(8)：1283-1294.]

TANG XJ, LIU SY, JI ZD, 2024. New rice germplasm with weak photosensitivity created by EMS mutagenesis [J]. Hybrid Rice, 39(3): 48-54. [康勋杰，刘士尧，冀占东，2024. 利用 EMS 诱变技术创制弱感光水稻种质资源 [J]. 杂交水稻，39(3)：48-54.]

TAR'AN B, WARKENTIN T, SOMERS DJ, et al., 2004. Identification of quantitative trait loci for grain yield, seed protein concentration and maturity in field pea (*Pisum sativum* L.) [J]. Euphytica, 136(3): 297-306.

TASAKA M, 2011. Identification of EMS-induced causal mutations in a non-reference *Arabidopsis thaliana* accession by whole genome sequencing [J]. Plant Cell and Physiology, 52(4): 716-722.

XUE W, 2023. EMS mutagenic cucumber mutant construction and phenotypic analysis [D]. Changchun: Jilin Agricultural University: 1-39. [薛伟，2023. EMS 诱变黄瓜突变体库构建及表型分析 [D]. 长春：吉林农业大学：1-39.]

YI DX, PANG YZ, 2022. Current situation and probleme of pea production and breeding in China [J]. Chinese Journal of Grassland, 44(1): 104-113. [仪登霞，庞永珍，2022. 我国豌豆生产和育种的现状与问题 [J]. 中国草地学报, 44(1): 104-113.]

ZHANG QF, HUANG YJ, YANG TT, et al., 2010. Research on phenotypic mutations in M_2 population derived from EMS treatment in *Brassica napus* L. [J]．Journal of Plant Genetic Resources, 11(6): 760-765. [张凤启，黄永娟，杨甜甜，等，2010. EMS 诱变甘蓝型油菜 M_2 代群体的表型突变研究 [J]. 植物遗传资源学报，11(6)：760-765.]

ZHU K, LI ZY, 2024. Research progress of sweet potato mutant library construction [J]. Journal of Jiangsu Normal University: Natural Science Edition, 42(1): 35-39. [朱琨，李宗芸，2024. 甘薯突变体库构建的研究进展 [J]. 江苏师范大学学报：自然科学版，42(1)：35-39.]